

Produkty lecznicze zaawansowanej terapii medycznej oparte na mezenchymalnych komórkach macierzystych

Renata Szydlak

Katedra Biochemii Lekarskiej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Kraków

Adres do korespondencji: Renata Szydlak, Katedra Biochemii Lekarskiej, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Kopernika 7, 31-034 Kraków, e-mail: renata.szydlak@uj.edu.pl

Advanced cellular therapy products based on mesenchymal stem cells

Recent developments in the field of cell therapy and regenerative medicine describe mesenchymal stem cells (MSCs) as potential biological products due to their ability to self-renew and differentiate. MSCs are multipotent cells with immunomodulatory and regenerative properties. Because of their therapeutic potential, they are extensively studied to assess their viability, safety and efficacy. This chapter describes the main characteristics and sources of MSC cells, as well as their properties and current clinical applications. It also presents the latest information on the regulatory aspects that define them as somatic cell therapy medicinal products. MSC-based cell therapy is currently offered as a pharmacological alternative, although we still face many challenges in this area.

Keywords: Mesenchymal stem cells, Cellular therapy, Regenerative medicine.

© Farm Pol, 2018, 74 (3): 178–183

Wstęp

Terapia komórkowa jest nowoczesnym podejściem terapeutycznym opierającym się na wykorzystaniu komórek jako czynników terapeutycznych [1]. W medycynie regeneracyjnej zbadanie i prawidłowe określenie rodzaju komórki stosowanej w konkretnym leczeniu ma zasadnicze znaczenie dla sukcesu terapii. Z tego powodu należy zdefiniować ich bezpieczeństwo i zdolność do naprawy, zastąpienia lub przywrócenia biologicznej funkcji uszkodzonych tkanek i narządów [1].

Dotychczasowe badania sugerują, że komórki macierzyste mogą być stosowane w medycynie regeneracyjnej ze względu na ich szczególną cechę, jaką jest zdolność do samoodnawiania, a także

różnicowania się (plastyczność komórkowa) w wyspecjalizowane komórki o określonych funkcjach. Klasyfikacja komórek macierzystych opiera się na ich potencjale do różnicowania w inne komórki, tkanki, narządy czy też cały organizm. Totipotentne komórki macierzyste mogą dać początek całemu organizmowi, pluripotentne mogą różnicować się w każdy typ komórki; nie są jednak w stanie wytworzyć łożyska i całego organizmu. Multipotentne komórki macierzyste to takie, które różnicują się w różne typy komórek, na ogół pochodzące z jednego listka zarodkowego, a unipotentne tylko w jeden typ komórki. Komórki pluripotentne i wielotentne są komórkami macierzystymi najczęściej badanymi w kontekście zastosowań klinicznych.

Obecnie najczęściej badanymi i stosowanymi w terapiach komórkowych są mezenchymalne komórki macierzyste (MSC). Pomimo niewielkiego potencjału proliferacyjnego i niższej plastyczności w porównaniu z embrionalnymi komórkami macierzystymi i indukowanymi komórkami macierzystymi, łatwiej jest pozyskać je z tkanek, a manipulacja nimi nie powoduje problemów etycznych, mają wysoką zdolność do ekspansji *in vitro* i niski potencjał tworzenia potworników [2–4]. Wszystkie te właściwości w połączeniu z ich zdolnością do wytwarzania cytokin i czynników wzrostu, migracji do regionu, w którym wystąpiły uszkodzenia tkanek i wywieranie działania immunomodulacyjnego w tym miejscu oznacza, że badanie i rozwój MSC jako składników biologicznych może pomóc w dostarczaniu nowych alternatyw terapeutycznych o wysokim potencjale w medycynie regeneracyjnej i terapii komórkowej w przypadku chorób, które dotychczas nie mają skutecznych

konwencjonalnych metod leczenia, takich jak: nowotwory, cukrzyca, przewlekła niedokrwistość kończyn dolnych, zawał mięśnia sercowego, choroba Parkinsona [5].

Mezenchymalne komórki macierzyste

Terminem „mezenchymalne komórki macierzyste” (*mesenchymal stem cells*, MSC) określa się multipotencjalne komórki progenitorowe zdolne do różnicowania się co najmniej w kierunku tkanki kostnej, chrzęstnej i tłuszczowej. Komórki MSC zostały po raz pierwszy opisane w 1968 r. przez Friedensteina jako jednostki tworzące kolonie, o fenotypie fibroblastów, adherentne i zdolne do regeneracji tkanki kostnej *ex vivo* [6].

W 2006 r. Międzynarodowe Stowarzyszenie Terapii Komórkowej (*International Society for Cellular Therapy*, ISCT) określiło minimalną charakterystykę wymaganą do klasyfikacji komórki jako MSC, czyli: (1) posiadanie zdolności do adhezji do tworzywa sztucznego w kulturze komórkowej, (2) ekspresji antygenów powierzchniowych CD73, CD90 i CD105 przy braku innych antygenów krwiotwórczych typu CD34, CD45 oraz typowych markerów dla limfocytów B, monocytów i makrofagów, multipotentność i duża plastyczność różnicowania *in vitro* w standardowych warunkach hodowlanych do osteoblastów, adipocytów i chondrocytów [2, 7, 8].

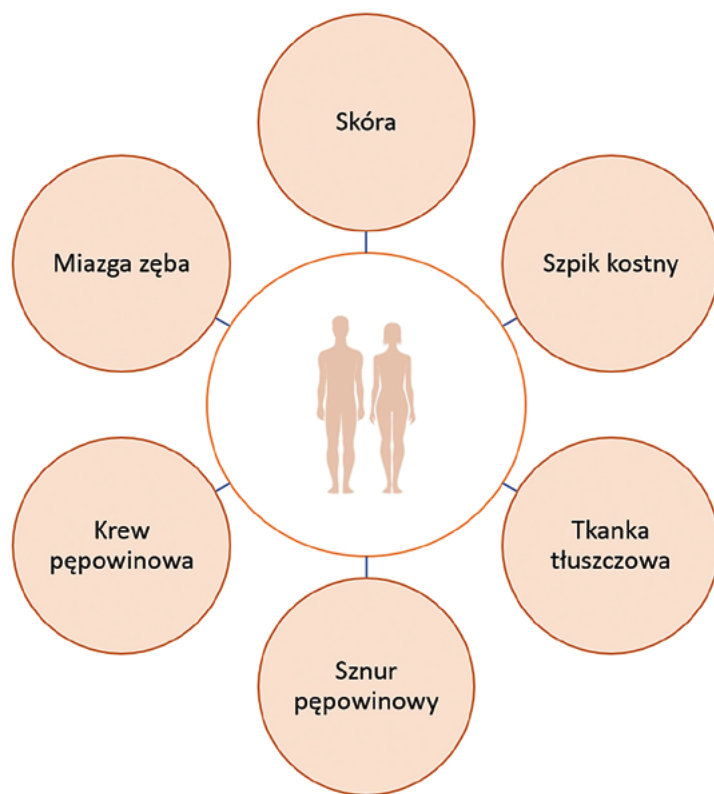
Oprócz właściwości zaproponowanych przez ISCT istnieją również inne cechy, które mogą pomóc w zdefiniowaniu i klasyfikacji komórki do MSC. Mezenchymalne komórki macierzyste ze względu na swoje mezodermalne pochodzenie wykazują pewne cechy fibroblastów, są zdolne do samoodnowy, a podczas podziału komórkowego tylko jedna z dwóch powstałych komórek rozpoczyna program różnicowania komórek, wykazując stosunkowo niską immunogenność i posiadając zdolność do różnicowania w pewnych warunkach do różnych linii komórkowych „różnicowanie plastyczności”.

Źródła i kultury mezenchymalnych komórek macierzystych

MSC można pozyskać ze szpiku kostnego, tkanki tłuszczowej, krwi pępowinowej, pępowiny, miazgi zębowej, mięśni gładkich, szkieletowych i mięśnia sercowego, wątroby, śledziony, jądra, krwi miazgowej, trzustki, okostnej, błony maziowej, skóry właściwej, pericytów, kości beleczkowatej, płuc, łożyska, krwi obwodowej, więzadeł przyzębia i płynu owodniowego [9, 10]. Wśród nich najpopularniejszy jest szpik kostny, tkanka tłuszczowa, krew pępowinowa i miazga zęba (**rycina 1**). Podczas izolacji MSC przez plastyczne przyleganie i hodowlę

in vitro mogą one w pewnych warunkach różnicować się w linie komórkowe mezodermalne, takie jak: osteocyty (komórki kostne), chondrocyty (komórki chrząstki), adipocyty (komórki tłuszczowe), mioblasty (prekursory komórek mięśniowych) oraz kardiomiocyty (komórki serca) [8, 11]. Mają również zdolność do różnicowania do komórek endodermalnych (hepatocyty, komórki trzustkowe) i ektodermalnych (keratynocyty, astrocyty i neurony) [12, 13].

MSC są łatwe do wyizolowania, ekspansji *in vitro* i manipulacji w trakcie procesu hodowli komórkowej, któremu muszą być poddawane w celu uzyskania liczby komórek w odpowiedniej dawce do implantacji pacjentowi. Mogą być również kriokonserwowane bez przechodzenia przez fenotypowe zmiany, tracąc zdolność do proliferacji lub ich zdolność do różnicowania po procesie rozmrażania [14]. Potencjał proliferacyjny MSC spada powyżej 7 pasażu, co jest związane ze zmianami cytogenetycznymi i spadkiem aktywności telomerazy [15]. Prowadzi to do starzenia się kultury i do pojawienia się zmian chromosomalnych, powodując jednocześnie utratę multipotentności komórkowej i starzenie się. Inne badania wykazały, że potencjał skuteczności i różnicowania może zmieniać się w zależności od wieku, stanu zdrowia dawcy, warunków pobierania tkanki, a także mediów i warunków stosowanych podczas hodowli komórek [16].



Rycina 1. Główne źródła mezenchymalnych komórek macierzystych

Charakterystyka mezenchymalnych komórek macierzystych

Mezenchymalne komórki macierzyste nie posiadają unikalnego specyficznego markera, dlatego też komórki te identyfikowane są na podstawie kombinacji markerów fenotypowych i właściwości funkcjonalnych. Zgodnie z wytycznymi ustalonymi przez ISCT, komórki MSC charakteryzuje obecność antygenów powierzchniowych CD105, CD73, CD90 przy jednoczesnym braku CD45, CD34, CD14 lub CD11b, CD79a lub CD19 i HLA-DR. MSC charakteryzują się obecnością powierzchniowych markerów multipotencjalności – STRO-1, CD105 i CD166, markerów związanych z terapeutyczną przydatnością MSC: CD29 (beta-integryna, indukcja angiogenezy), ICAM-1 (CD54, rodzina supergenów immunoglobulinowych), CD44 (receptor hialuronowy, wytwarzanie macierzy zewnątrzkomórkowej), HLA-DR-, w większości MHC Class 1 – pozytywne (niska immunoreaktywność po przeszczepieniu w przypadku niezgodności HLA) [8, 17–21]. Innymi markerami obecnymi na MSC są: CD9, CD10, CD13, CD29, CD44, CD49d, CD49e, CD54, CD55, CD59, CD73, CD117 i CD146 [22]. Dodatkowo wykazano, że na MSC mogą występować ligandy istotne dla interakcji z limfocytami T, takie jak VCAM-1, ICAM-1, LFA-3.

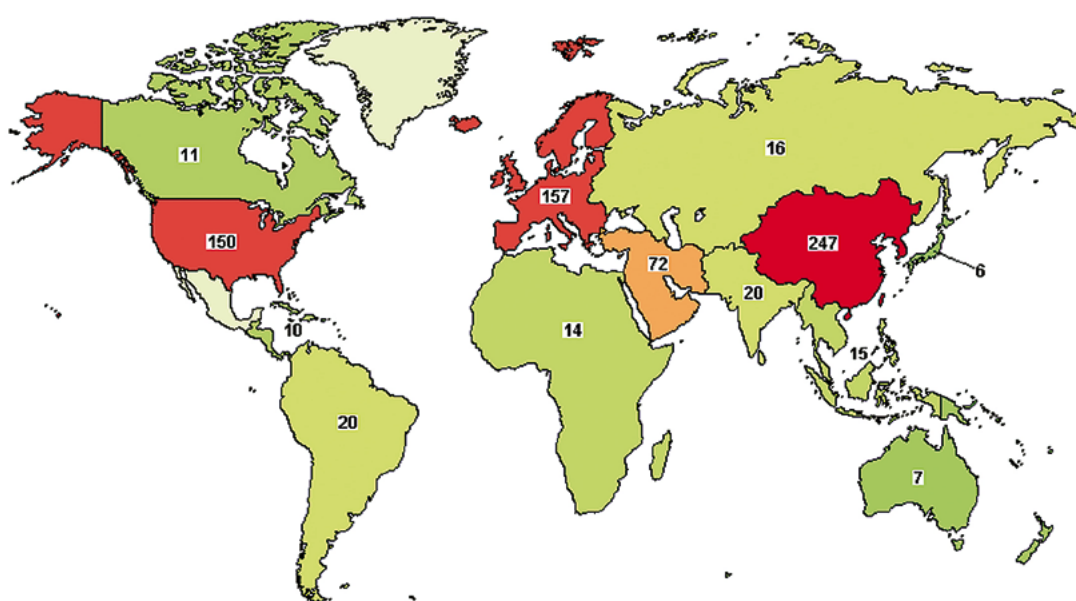
W zależności od pochodzenia MSC ekspresja markerów powierzchniowych zmienia się, np. MSC wyizolowane z tkanki tłuszczowej wykazują wyższy poziom antygenu powierzchniowego dla: CD34, CD49d, CD54; MSC pozyskane ze szpiku kostnego wykazują wyższy poziom antygenu

powierzchniowego CD106, a MSC uzyskane z krwi pępowinowej rzadko wykazuje obecność antygenu powierzchniowego CD90 [23]. W zależności od źródła komórki MSC różnią się syntezą integryny VLA-4 (CD49d) i jej receptora VCAM-1 (CD106).

Chociaż obecne wytyczne ISCT wciąż mają zastosowanie przy definiowaniu komórki jako MSC, w przypadku rozróżniania MSC od fibroblastów konieczne jest oznaczenie innych markerów ze względu na wysoką homologię z fibroblastami w odniesieniu do obecności lub braku antygenów powierzchniowych opisanych do scharakteryzowania MSC [CD73 (+) CD90 (+), CD105 (+), CD14 (-) CD34 (-) CD45 (-)]. W tym przypadku konieczne jest oznaczenie dodatkowych specyficznych markerów rozróżniających MSC (CD106, CD146, ITGA11) i fibroblastów (CD10, CD26).

Terapeutyczny potencjał mezenchymalnych komórek macierzystych

Pomimo że MSC są jednym z głównych narzędzi używanych obecnie w terapii komórkowej, mechanizm ich działania nie do końca został poznany. Jednak wyniki uzyskane z badań przedklinicznych i klinicznych przeprowadzonych w ostatnich dziesięcioleciach wyraźnie wskazują, że MSC posiadają wysoką zdolność do immunomodulacji, regeneracji i gojenia uszkodzonych tkanek. MSC regulują wydzielanie parakrynnych czynników wzrostu, cytokin, czynników antyfibroskopowych i mediatorów angiogennych [24]. Szereg pozytywnych wyników doświadczeń na zwierzętach i badań klinicznych



Rycina 2. Badania kliniczne z użyciem mezenchymalnych komórek macierzystych na świecie w styczniu 2018 r.
<https://clinicaltrials.gov/ct2/results/map?term=mescenchymal+stem+cells&map=> (stan z 10.02.2018)

jest raczej rezultatem immunomodulacyjnego i regulującego endogenną regenerację wpływu MSC, a nie odtwarzaniem tkanek przez kierunkowe różnicowanie MSC.

Terapeutyczny efekt może zostać uzyskany przy wykorzystaniu trzech właściwości MSC: różnicowania w kilka rodzajów tkanek, efektu immunomodulacyjnego oraz zdolności do regulacji zjawisk zachodzących w ich otoczeniu poprzez wydzielanie odpowiednich cytokin i bezpośredni kontakt z innymi komórkami. Wykazano, że w większości przypadków MSC pełnią rolę miejscowego koordynatora naprawy tkankowej. Ich przewagą nad stosowaniem innych mediatorów (cytokin, PRP) jest sprzężenie zwrotne pomiędzy MSC a innymi komórkami i mediatorami regeneracji tkanek, umożliwiające dostosowywanie sygnalizacji MSC do zmieniającej się sytuacji, np. hamowanie odczynu zapalnego w pierwszej fazie regeneracji i wytwarzanie stymulatorów dla proliferacji i różnicowania komórek w fazie następnej.

Wykazano, że MSC pełnią funkcję regeneracyjną w uszkodzonych tkankach, takich jak: skóra, kości, chrząstki, wątroba, rogówka, ze względu na ich zdolność do różnicowania się w wyspecjalizowane komórki, takie jak: chondrocyty, osteocyty, komórki nabłonkowe, komórki nerki i pigmentowe komórki nabłonkowe. Udowodniono również skuteczność w regeneracji tkanek przyzębia, mięśnia sercowego, układu nerwowego, itp.

Aspekty regulujące stosowanie mezenchymalnych komórek macierzystych w Europie

Produkty terapii komórkowej są uważane za leki w Unii Europejskiej od 2003 r. Zostały wprowadzone do prawodawstwa poprzez rozporządzenie (WE) nr 2003/63 wraz z produktami terapii genowej [25]. Terapię komórkową, produkty do terapii genowej i inżynierię tkanek zdefiniowano jako produkty lecznicze zaawansowanych terapii medycznych w rozporządzeniu (WE) nr 1394/2007, które reguluje stosowanie MSC, definiując je jako produkt leczniczy somatycznej terapii komórkowej (*somatic cell therapy medicinal products*, sCTMP) zawierający żywe komórki, które mogą być poddawane manipulacji (ekspansji i hodowli *in vitro*) podczas ich wytwarzania, a których zasadnicze funkcje biologiczne u dawcy i u biorcy różnią się [25].

Wytwarzanie produktów leczniczych opartych na MSC powinno podlegać wytycznym dobrej praktyki wytwarzania (*Good Manufacturing Practice*, GMP), gdzie należy zagwarantować jakość i bezpieczeństwo komórek, podobnie jak innych leków pochodzenia niekomórkowego [26]. Spełnienie standardów GMP obejmuje kontrolę jakości

biologicznego materiału wyjściowego, odczynników i materiałów eksploatacyjnych stosowanych w całym procesie ekspansji MSC *in vitro*, aż do uzyskania wymaganych dawek. Ponadto wymagane jest, aby proces produkcji MSC jako sCTMP przebiegał w warunkach całkowicie sterylnych, a więc pomieszczenia i urządzenia muszą posiadać odpowiednie certyfikaty, procesy produkcji muszą zostać zwerifikowane przez właściwe organy, a personel powinien zostać odpowiednio przeszkolony. Finalnie otrzymany lek na bazie MSC musi spełniać wszystkie standardy GMP (czystość, skuteczność, dawka, stabilność genetyczna, żywotność komórek) [27].

W badaniach klinicznych produktów na bazie MSC istotne są czynniki takie jak: źródło komórek (szpik kostny, tkanka tłuszczowa, pępowina), metoda izolacji MSC (enzymatyczna lub nieenzymatyczna), proces ekspansji *in vitro* (medium hodowlane), stężenie tlenu, maksymalna liczba pasażów, itp. [28]. Pod uwagę należy wziąć również określenie skutecznej dawki. Przyszłe strategie stosowania MSC w terapii komórkowej powinny dążyć do standaryzacji i wypracować bardziej szczegółowe i jednolite kryteria stosowania.

Zastosowania kliniczne

Terapia komórkowa polega na przeszczepieniu komórek autologicznych (komórek tego samego pacjenta) lub allogenicznych (komórek od dawcy) albo poprzez miejscowe lub ogólnoustrojowe podawanie.

Od 1995 r., kiedy przeprowadzono pierwsze badanie kliniczne, w którym 15 pacjentów poddawano leczeniu autologicznymi MSC wyizolowanymi ze szpiku kostnego, badania kliniczne produktów leczniczych na bazie tych komórek zostały szeroko omówione [29]. Obecnie prowadzone jest 807 prób klinicznych na komórkach macierzystych na całym świecie, które koncentrują się na badaniu skuteczności i bezpieczeństwa MSC w zastosowaniach terapeutycznych. Większość badań klinicznych znajduje się w fazie I, fazie II lub połączonych fazach I-II, jednak tylko w 24 próbach badania przeszły do fazy III (tabela 1).

Tabela 1. Badania kliniczne z użyciem mezenchymalnych komórek macierzystych

Choroba	Liczba badań klinicznych w III fazie
Choroby hematologiczne	6
Zaburzenia nerwowo-mięśniowe	3
Uszkodzenia chrząstki i kości	2
Udar mózgu	3
Choroby układu pokarmowego	2
Choroby układu sercowo-naczyniowego	6
Choroby autoimmunologiczne	2

Tabela 2. Produkty lecznicze terapii komórkowej na bazie mezenchymalnych komórek macierzystych

Nazwa leku	Producent	Źródło MSC	Choroba
Cartistem®	Medipost Co Ltd.	allogeniczne MSC z krwi pępowinowej	defekty chrząstki stawu kolanowego spowodowane przez traumatyczne i zwyrodnieniowe zapalenie kości i stawów
Cuspitem®	Anterogen Co Ltd.	autologiczne MSC z tkanki tłuszczowej	choroba Leśniowskiego-Crohna
HeartiCellgram-AMI®	FCB-Pharmicell Co Ltd.	autologiczne MSC ze szpiku kostnego	zawał mięśnia sercowego
Prochymal®	Osiris Therapeutics Inc.	allogeniczne MSC ze szpiku kostnego	choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi u dzieci (2–17 lat)
TEMCELL HS®	JCR Pharmaceuticals Co. Ltd.	allogeniczne MSC ze szpiku kostnego	zawał mięśnia sercowego choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi

Do tej pory wyniki uzyskane zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo* przeprowadzonych z MSC wskazują, że komórki jako obiecującą terapeutyczną alternatywę w leczeniu różnych chorób, takich jak cukrzyca, stwardnienie rozsiane i zawał mięśnia sercowego (tabela 2). Mimo że udowodniono, iż stosowanie terapii z udziałem MSC jest bezpieczne, nadal istnieją pewne wyzwania, takie jak wykazanie skuteczności terapii, określenie długoterminowych efektów, dostosowanie dawki, drogi podawania, itd.

W 2011 r. wprowadzono AMI HeartiCellgram® (Korea Południowa), który był pierwszym na świecie lekiem na bazie MSC. Od tego czasu zatwierdzono także inne leki: Cartistem® i Cuspitem® (Korea Południowa), Prochymal® (Kanada i Nowa Zelandia) oraz Temcell® (Japonia). Jednak do tej pory sCTMP nie został wprowadzony do obrotu w UE.

Oprócz leków przedstawionych w tabeli 2 w Stanach Zjednoczonych wytwarzane są inne produkty z allogenicznymi MSC, które zostały dopuszczone do stosowania jako produkty lecznicze: OsteoCel® (NuVasive), Trinity (Orthofix), Allostem® (AlloSource) i LiquidGen® (Skye Ortodoncja). Wszystkie te produkty lecznicze oparte są na matrycy allogenicznej, w której komórki są osadzone w celu promowania osteogenezy i zmniejszenia stanu zapalnego w uszkodzonej tkance kości.

Podsumowanie

Wyniki uzyskane zarówno w badaniach *in vitro*, jak i *in vivo* umożliwiły zakwalifikowanie MSC do leków terapii komórkowej. Ustalono kryteria wytwarzania jako produktu terapeutycznego, zapewniając jednocześnie jego jakość. Ta kompleksowa kontrola jest istotna dla utrzymania potencjału naprawczego MSC, którego skuteczność polega na parakrynnym działaniu i zdolnościach immunomodulacyjnych i regeneracyjnych w uszkodzonej tkance.

Obecnie MSC uważa się za terapeutyczną alternatywę w leczeniu wielu zaburzeń, takich jak choroby odpornościowe, zwyrodnieniowe lub traumatyczne. Pomimo udowodnionego bezpieczeństwa, nadal istnieje wiele przeszkód, aby wprowadzić te

rodzaje komórek jako leki w terapii komórkowej. Ich natura, zastosowanie i regulacja poprzez niszę lub mikrośrodowiska powinny być dogłębnie przebadane, ponieważ ich funkcjonalność może zmieniać się w zależności od bezpośredniej interakcji z innymi komórkami. Istotne jest zbadanie zachowania różnych populacji MSC w odniesieniu do konkretnych nisz, a nie uogólnienie jej terapeutycznego zastosowania.

Otrzymano: 2018.02.19 · Zaakceptowano: 2018.03.23

Piśmiennictwo

- Gálvez P., Ruiz A., Clares B.: The future of clinical medicine in new therapies: cell, gene and nanomedicine. *Med Clin (Barc)* 2011, 137: 645–649.
- Trounson A., McDonald C.: Stem cell therapies in clinical trials: progress and challenges. *Cell Stem Cell* 2015, 17: 11–22.
- Bieback K., Brinkmann I.: Mesenchymal stromal cells from human perinatal tissues: from biology to cell therapy. *World J Stem Cells* 2010, 2: 81–92.
- Gálvez P., Clares B., Hmadcha A., Ruiz M.A., Soria B.: Development of a cell-based medicinal product: regulatory structures in the European Union. *Br Med Bull* 2013, 105: 85–105.
- Nauta A.J., Fibbe W.E.: Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood* 2007, 110: 3499–3506.
- Friedenstein A.J., Petrakova K.V., Kurolesova A.I., Frolova G.P.: Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues. *Transplantation* 1968, 6: 230–247.
- Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop D.J., Horvitz E.: Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells: The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006, 8: 315–317.
- Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C. i wsp.: Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999, 284: 143–147.
- Baksh D., Song L., Tuan R.S.: Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy. *J Cell Mol Med* 2004, 8: 301–316.
- Kern S., Eichler H., Stoeve J., Klüter H., Bieback K.: Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells* 2006, 24: 1294–1301.
- Jiang Y., Jahagirdar B.N., Reinhardt R.L., Schwartz R.E., Keene C.D., Ortiz-Gonzalez X.R. i wsp.: Pluripotency of mesenchymal stem cells from adult marrow. *Nature* 2002, 418: 41–49.
- Safford K.M., Hicok K.C., Safford S.D., Halvorsen Y.D., Wilkison W.O., Gimble J.M., Rice H.E.: Neurogenic differentiation of murine and human adipose-derived stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2002, 294: 371–379.
- Gimble J.M., Guilak F., Nuttall M.E., Sathishkumar S., Vidal M., Bunnell B.A.: In vitro differentiation potential of mesenchymal stem cells. *Transfus Med Hemother* 2008, 35: 228–238.
- Gonda K., Shigeura T., Sato T., Matsumoto D., Suga H., Inoue K., Aoi N., Kato H., Sato K., Murase S., Koshima I., Yoshimura K.: Pre-served proliferative capacity and multipotency of human adipose-derived stem cells after long-term cryopreservation. *Plast Reconstr Surg* 2008, 121: 401–410.
- Sharpless N.E., De Pinho R.A.: Telomeres, stem cells, senescence, and cancer. *J Clin Invest* 2004, 113: 160–168.

16. Utsunomiya T., Shimada M., Imura S., Morine Y., Ikemoto T., Mori H., Hanaoka J., Iwahashi S., Saito Y., Iwaguro H.: Human adipose-derived stem cells: potential clinical applications in surgery. *Surg Today* 2011, 241: 18–23.
17. Gronthos S., Franklin D.M., Leddy H.A., Robey P.G., Storms R.W., Gimple J.M.: Surface protein characterization of human adipose tissue derived stromal cells. *J Cell Physiol* 2001, 189: 54–63.
18. Majumdar M.K., Thiede M.A., Mosca J.D., Moorman M., Gerson S.L.: Phenotypic and functional comparison of cultures of marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) and stromal cells. *J Cell Physiol* 1998, 176: 57–66.
19. Ashjian P.H., Elbarbary A.S., Edmonds B., DeUgarte D., Zhu M., Zuk P.A., Lorenz H.P., Benhaim P., Hedrick M.H.: In vitro differentiation of human processed lipoaspirate cells into early neural progenitors. *Plast Reconstr Surg* 2003, 111: 1922–1931.
20. Roebuck K.A., Finnegan A.: Regulation of intercellular adhesion molecule-1 (CD54) gene expression. *J Leukoc Biol* 1999, 66: 876–888.
21. Aust L., Devlin B., Foster S.J., Halvorsen Y.D., Hicok K., du Laney T., Sen A., Willingmyre G.D., Gimple J.M.: Yield of human adipose-derived adult stem cells from liposuction aspirates. *Cytotherapy* 2004, 6: 7–14.
22. Mitchell J.B., McIntosh K., Zvonic S., Garrett S. i wsp.: The immunophenotype of human adipose derived cells: temporal changes in stromal- and stem cell-associated markers. *Stem Cells* 2006, 24: 376–338.
23. Menard C., Pacelli L., Bassi G., Dulong J. i wsp.: Clinical-grade mesenchymal stromal cells produced under various good manufacturing practice processes differ in their immunomodulatory properties: standardization of immune quality controls. *Stem Cells Dev.* 2013, 22: 1789–1801.
24. Meirelles S., Fontes A.M., Covas D.T., Caplan A.I.: Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2009, 20: 419–427.
25. Martín P.G., Martínez A.R., Lara V.G., Naveros B.C.: Regulatory considerations in production of a cell therapy medicinal product in Europe to clinical research. *Clin Exp Med.* 2014, 1: 25–33.
26. Gálvez P., Clares B., Bermejo M., Hmadcha A., Sorja B.: Standard requirement of a microbiological quality control program for the manufacture of human mesenchymal stem cells for clinical use. *Stem Cells Dev.* 2014, 23: 1074–1083.
27. Salmikangas P., Schuessler-Lenz M., Ruiz S. i wsp.: Marketing regulatory oversight of advanced therapy medicinal products (ATMPs) in Europe: the EMA/CAT Perspective. *Adv Exp Med Biol.* 2015, 871: 103–130.
28. Peired A.J., Sisti A., Romagnani P.: Mesenchymal stem cell-based therapy for kidney disease: a review of clinical evidence. *Stem Cells Int.* 2016: 4798639.
29. Lazarus H.M., Haynesworth S.E., Gerson S.L., Rosenthal N.S., Caplan A.I.: Ex vivo expansion and subsequent infusion of human bone marrow-derived stromal progenitor cells: implications for therapeutic use. *Bone Marrow Transplant.* 1995, 16: 557–564.